

KERAGAMAN FENOTIPE DAN GENETIK TIGA VARIETAS KELAPA GENJAH KOPYOR ASAL PATI JAWA TENGAH

Phenotypic and Genotypic Variabilities among Kopyor Dwarf Coconut Varieties Originated from Pati Central Java

ISMAIL MASKROMO¹⁾, ELSJE T. TENDA¹⁾, MEITY A. TULALO¹⁾, HENGKY NOVARIANTO¹⁾, DEWI SUKMA²⁾,
SUKENDAH³⁾, dan SUDARSONO²⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Palma

Jalan Raya Mapanget, Manado 95001

²⁾ Plant Molecular Biology (PMB) Laboratorium,

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

Jalan Meranti, Kampus Dramaga, Bogor 16680

³⁾ Departemen Agroteknologi, Fakultas Pertanian, UPN Veteran Surabaya

Jalan Raya Rungkut, Surabaya 60294

e-mail: is_maskromo@yahoo.com

(Diterima: 6-10-2014; Direvisi: 21-1-2015; Disetujui: 9-2-2015)

ABSTRAK

Kelapa Genjah kopyor asal Pati, Jawa Tengah merupakan kekayaan hayati asli Indonesia dengan nilai ekonomi tinggi. Informasi keragaman genetik kelapa kopyor masih terbatas. Data keragaman morfologi dan genetik diperlukan dalam program pemuliaan kelapa kopyor. Penelitian ini mempelajari keragaman tiga varietas kelapa genjah kopyor asal Pati yang telah dilepas berdasarkan karakter morfologi, kuantitas endosperma, dan keragaman alel marka SSR. Penelitian dilakukan di Pati dan di Laboratorium *Plant Molecular Biology*, Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB. Evaluasi dilakukan terhadap tiga populasi kelapa Genjah kopyor (hijau, coklat, dan kuning) dengan 30 tanaman sampel untuk setiap populasi. Rataan data morfologi digunakan untuk menyusun dendrogram. Kuantitas endosperma diamati pada satu buah kelapa kopyor per tanaman yang dievaluasi. Karakteristik endosperma dikelompokkan sesuai kategori yang telah ditetapkan. Untuk setiap populasi, analisis marka dengan lima pasang primer SSR dilakukan pada 10 tanaman sampel. Data yang didapat digunakan untuk menentukan keragaman genetik kelapa Genjah kopyor asal Pati. Hasil pengamatan menunjukkan keragaman morfologis dan alel SSR antar tanaman dalam varietasnya (keragaman intra-varietas) rendah. Sebaliknya, keragaman morfologis dan alel SSR antar varietasnya tinggi. Kuantitas endosperma kelapa Genjah kopyor asal Pati bervariasi antara skor 1–6. Keragaman genetik yang rendah dalam varietas dan tinggi antar ketiga varietas (coklat, hijau, dan kuning) memperkuat pelepasan ketiganya sebagai varietas lokal. Selain itu, keragaman genetik antar tanaman dalam varietas yang rendah mendukung penggunaan ketiga varietas lokal sebagai tetua dalam program perakitan varietas kelapa kopyor unggul baru. Tetua yang dipilih dapat diseleksi *intra-varietas* berdasarkan persentase buah kopyor per tandan dan skor kuantitas endosperma yang tinggi.

Kata kunci: Keragaman morfologis, keragaman intra dan antar varietas, kuantitas endosperma

ABSTRACT

Kopyor dwarf coconuts are mutants from Pati, Central Java having high economic values. However, morphological and genetic diversities of

this coconut were still limited. Morphological and genetic diversity data are needed for breeding program. The research objectives were to evaluate intra and inter-specific diversity based on morphology, endosperm quantity, and SSR alleles. Field evaluations were conducted in Pati while laboratory activities were at Plant Molecular Biology Laboratory, Department of Agronomy and Horticulture, IPB. Three populations of kopyor dwarf varieties (brown, green, and yellow) were evaluated. Thirty trees were sampled for each population. The average of morphological data were used to construct cluster analysis. Endosperm quantity was scored (0 – 9) based on a single nut sample. Ten palms were analyzed using five SSR loci for each population and used to determine genetic diversity of populations. Results of observations indicated intra-variety morphological and SSR allele variations among kopyor dwarf was low. However, inter-variety variations were high. The endosperm quantity scores among kopyor dwarf coconut ranged from 1–6. The low intra-variety and high inter-variety variations among the three kopyor dwarf coconut supported their release as different local varieties. Moreover, the low intra-variety phenotypic and genotypic diversities among kopyor brown, green, and yellow dwarf coconut support their use as parents for new and superior kopyor coconut variety development in the future. For such purpose, however, it is necessary to conduct intra-variety selection to identify desirable parents based on high kopyor fruit percentage per bunch and for high kopyor endosperm quantity.

Key words: Morphological diversity, intra and inter variety diversities, quantity, endosperm

PENDAHULUAN

Kelapa kopyor merupakan salah satu plasma nutfah eksotik asli Indonesia yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Namun demikian, jumlah tanaman dan produksi kelapa unik ini masih terbatas sehingga harga jualnya relatif mahal. Pada tahun 2014, jenis kelapa ini dijual dengan kisaran harga Rp. 20.000–Rp. 30.000 per butir di tingkat petani.

Kelapa kopyor sudah dikenal orang sejak 40 tahun yang lalu. Namun demikian, pengembangannya masih terbatas dan terkendala oleh sejumlah permasalahan dalam budidaya dan penyediaan benihnya (SUDARSONO *et al.*, 2013). Ada dua tipe jenis kelapa ini, yaitu Dalam dan Genjah. Perbanyakannya di tingkat petani dilakukan dengan menggunakan benih kelapa kopyor alami. Perbanyak kelapa kopyor menggunakan benih hasil kultur embrio masih terbatas (MASKROMO dan NOVARIANTO, 2007).

Karakteristik endosperma (daging buah) pada buah kelapa kopyor yang remah dan lembut, diduga merupakan hasil mutasi genetik alami gen pengendali fenotipe (MASKROMO *et al.*, 2013). Mutasi yang bersifat resesif-lethal tersebut, diduga menyebabkan endosperm kelapa kopyor menjadi mudah terlepas dari tempurungnya. Hubungan antara jaringan endosperma dengan embrio menjadi terputus. Buah kelapa dengan fenotipe kopyor tidak mampu berkecambah secara alami. Mutan alami kelapa lain yang endospermnya juga mengalami perubahan fenotipe menjadi abnormal adalah makapuno. Kelapa makapuno tersebut dikembangkan di Filipina. Mutan endosperma kelapa makapuno juga dikendalikan oleh gen mutan resesif yang lethal sehingga buahnya tidak dapat berkecambah secara normal. Untuk mendapatkan benih, embrio sigotik harus dikedambahkan dengan bantuan teknik kultur embrio.

Sebagai hasil mutasi alami, populasi dan jumlah tanaman kelapa mutan berbuah kopyor relatif masih sedikit dibandingkan dengan yang normal. Peluang terjadinya mutasi alami adalah 10^{-5} sampai 10^{-6} per generasi. Oleh karena itu, organisme hasil mutasi cenderung lethal sehingga perkembangbiakannya terbatas dan akhirnya bisa punah. Berdasarkan hal tersebut, kelapa kopyor mutan seharusnya sangat jarang dijumpai. Pada kenyataannya, kelapa kopyor ditemukan di sejumlah sentra produksi kelapa di Indonesia. Khusus untuk daerah Pati, ditemukan dua tipe kelapa kopyor, yaitu Genjah dan Dalam (MASKROMO, 2005). Di lokasi lain hanya dijumpai kelapa kopyor Dalam.

Keberadaan populasi kelapa berbuah kopyor, di beberapa lokasi Pati dengan variasi warna buah, memunculkan pertanyaan seberapa dekat hubungan kekerabatan genetik antar tanaman dalam populasi yang sama dan antar populasi tanaman. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan genetik diperlukan pengujian kemiripan genetik di dalam dan antar populasi.

Pendugaan tingkat kemiripan genetik antar tanaman dan populasi dapat dilakukan berdasarkan pengamatan keragaman karakter morfologis antar individu dalam populasi. Metode ini mempunyai sejumlah kelemahan karena adanya pengaruh lingkungan. Sebagai alternatif, dapat digunakan marka molekuler berdasarkan keragaman runutan DNA dalam genom tanamannya. Marka molekuler lebih akurat karena tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan perkembangan tanaman. Penggabungan hasil evaluasi morfologis dan molekuler memungkinkan untuk melakukan pendeskripsian kelapa kopyor dengan lebih baik.

Marka molekuler telah banyak membantu penelitian genetika dan pemuliaan tanaman karena dapat digunakan sebagai alat seleksi (*selection tools*) dan evaluasi keragaman. Marka yang digunakan untuk analisis molekuler tanaman antara lain *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), dan *Simple Sequence Repeats* (SSRs) atau mikrosatelit. Marka molekuler tersebut memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing dalam hal teknik dan waktu pelaksanaan, biaya per contoh, serta keakuratan informasi yang dihasilkan (KUMAR *et al.*, 2009; MONDINI *et al.*, 2009).

Marka SSR banyak digunakan untuk analisis penciri genetik (*genetic fingerprinting*). Marka ini pada umumnya memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi (PARK *et al.*, 2009). Penggunaan primer spesifik dalam analisis menggunakan marka SSR menghasilkan produk amplifikasi dari lokus target tertentu sehingga meningkatkan keakuratan deteksi perbedaan atau kesamaan antar individu. Karena tingginya tingkat keakuratan, peneliti dapat menggunakan marka SSR di laboratorium yang berbeda dengan hasil yang relatif sama (PARK *et al.*, 2009). Kelebihan lain marka SSR adalah kemudahan dalam skoring dan analisis data sehingga dapat dijadikan sebagai marka standar untuk karakterisasi aksesori plasma nutfah (SUDARSONO *et al.*, 2013). Marka SSR telah digunakan untuk mempelajari keragaman genetik populasi kelapa Dalam di Brazil (RIBEIRO *et al.*, 2010), Republik Dominika (MARTINEZ *et al.*, 2010), tiga aksesori di Afrika Barat (YAO *et al.*, 2013), serta menguji tanaman hibrida dan mengidentifikasi varietas kelapa di Srilanka (PERERA, 2010).

Penelitian ini bertujuan menentukan keragaman tiga varietas kelapa Genjah kopyor asal Pati yang telah dilepas sebelumnya sebagai varietas lokal berdasarkan karakter morfologi dan kuantitas endosperma serta menentukan keragaman genetiknya berdasarkan variasi alel pada lima lokus marka SSR. Dari kegiatan penelitian diharapkan diperoleh informasi tingkat kesamaan fenotipe dan genotipe antar tanaman dalam populasi dan antar populasi kelapa Genjah kopyor asal Pati tersebut. Informasi ini sangat diperlukan dalam pengelolaan plasma nutfah dan perencanaan program pemuliaan kelapa kopyor di masa datang.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel buah dan daun kelapa kopyor dilakukan di Kabupaten Pati. Pengamatan endosperma buah kelapa kopyor dan analisis DNA dilakukan di Laboratorium *Plant Biology Molecular* (PMB), Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2010 sampai dengan Nopember 2012. Penelitian terdiri atas tiga sub-kegiatan, yaitu pengamatan karakter morfologi dan endosperma buah

serta analisis keragaman genetik kelapa Genjah kopyor asal Pati berdasarkan marka SSR.

Karakter Morfologi Kelapa Genjah Kopyor

Kelapa Genjah kopyor asal Pati menyebar di tujuh kecamatan, Kabupaten Pati, Jawa Tengah. Pengamatan hanya dilakukan tiga kecamatan, yaitu di Tayu, Margoyoso, dan Dukuh Seti, dengan populasi tanaman kelapa kopyor paling banyak dijumpai. Pengambilan sampel dilakukan dengan pendekatan *purposive random sampling* dan difokuskan pada tanaman kelapa kopyor dengan buah berwarna coklat (GCK), hijau (GHK), dan kuning (GKK) yang telah dilepas sebelumnya. Evaluasi dilakukan untuk memvalidasi bahwa terdapat homogenitas fenotipe dalam varietas yang sama dan heterogenitas antar varietas.

Pengamatan morfologi dilakukan secara langsung di lapangan, terhadap tanaman yang sebelumnya telah diketahui menghasilkan buah kopyor. Karakter morfologi yang diamati, meliputi vegetatif dan generatif. Di setiap lokasi dipilih dan diamati 30 tanaman untuk setiap warna buah kelapa Genjah kopyor.

Parameter morfologi karakter vegetatif dan generatif pada tanaman kelapa kopyor yang dievaluasi antara lain (a) lingkaran batang pada posisi 20 cm dan 1,5 m dari atas permukaan tanah serta tinggi 11 bekas daun, (b) jumlah helai, panjang tangkai dan lamina, lebar dan tebal tangkai daun, serta jumlah, panjang, lebar, dan tebal anak daun, dan (c) jumlah bunga betina, panjang, lebar, dan tebal tangkai tandan, panjang rangkaian bunga, serta jumlah dan panjang spikelet (tangkai buah).

Pengamatan karakteristik dan komponen buah meliputi (a) jumlah tandan, buah per tandan, dan buah kopyor per tandan, warna, bentuk, dan ukuran utuh buah, serta bentuk dan ukuran buah tanpa sabut dan (b) bobot buah utuh, buah tanpa sabut, buah tanpa sabut dan air, dan daging buah, serta tebal daging.

Buah kelapa kopyor selalu dipanen lebih awal satu bulan (10-11 bulan setelah antesis (BSA)), sedangkan yang normal dipanen 11-12 BSA. Buah kelapa kopyor dipanen dengan cara memelintir atau memutar sehingga meninggalkan bekas spesifik pada spikelet. Secara tidak langsung, jumlah buah yang telah dipanen dapat ditentukan dengan menghitung bekas pelintiran pada spikelet. Jumlah buah per tandan yang dipanen juga dihitung secara langsung oleh tukang totok. Tukang totok ini mampu mengidentifikasi kelapa kopyor umur minimal 10 BSA dengan mengetuk buah dan membedakan suara yang terdengar. Ketika diketok dengan tangan, buah kelapa kopyor bunyinya tidak senyaring buah normal. Dengan cara mengetuk buah yang masih menempel di tandan, tukang totok dapat mengidentifikasi kelapa kopyor dengan tingkat akurasi lebih besar dari 99%. Setiap tanaman yang dievaluasi, diambil 1 atau 2 butir buah yang dipanen untuk validasi identitas dan pengamatan berbagai karakteristik. Validasi identitas kelapa kopyor dilakukan dengan cara dibelah dan diamati endospermanya.

Hasil pengamatan setiap karakter dihitung nilai rata-rata dan koefisien keragaman dalam aksesori. Selanjutnya, data morfologi dianalisis untuk menentukan tingkat kemiripan fenotipe antar aksesori menggunakan program *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) versi 2.02. Dalam evaluasi ini, varietas kelapa Genjah unggul yang telah dilepas sebelumnya, yaitu Genjah Kuning Nias (GKN), Genjah Salak (GSK), dan Genjah Raja (GRA) (NOVARIANTO *et al.*, 1999), digunakan sebagai pembandingan.

Kuantitas Endosperma Kelapa Genjah Kopyor

Pengambilan buah kelapa Genjah kopyor dilakukan di sejumlah tanaman untuk masing-masing aksesori yang telah ditentukan sebelumnya. Buah kelapa kopyor dipanen pada saat berumur 10-11 BSA. Pemanenan buah kelapa kopyor dilakukan oleh tukang totok. Pada tahap ini hanya dievaluasi buah kelapa yang diidentifikasi sebagai buah kopyor.

Buah kelapa kopyor dipanen dari tiga varietas, yaitu GCK, GHK, dan GKK. Untuk masing-masing varietas kelapa Genjah kopyor asal Pati yang terdapat di tiga lokasi, dipilih lima tanaman sampel untuk pemanenan buah. Dari setiap tanaman terpilih, selanjutnya dipanen satu buah kelapa kopyor untuk pengamatan karakteristik endosperma. Evaluasi karakteristik endosperma berdasarkan skoring untuk kuantitas dan atau volume panen, sesuai kriteria yang telah dikembangkan SUDARSONO *et al.* (2011). Berdasarkan banyaknya endosperma yang ada di dalam batok kelapanya, skor kuantitas endosperma berkisar 1-6, yang menunjukkan:

- 1 = endosperma kopyor, tidak terlepas dari batoknya, dan menempati < 5% volume batok kelapa.
- 2 = endosperma kopyor, terlepas dari batoknya, dan menempati < 10% volume batok kelapa.
- 3 = endosperma kopyor, terlepas dari batoknya, dan menempati < 20% volume batok kelapa.
- 4 = endosperma kopyor, terlepas dari batoknya, dan menempati < 30% volume batok kelapa.
- 5 = endosperma kopyor, terlepas dari batoknya, dan menempati < 40% volume batok kelapa.
- 6 = endosperma kopyor, terlepas dari batoknya, dan menempati < 50%. Volume batok kelapa.

Analisis Diversitas Genetik dengan Marka SSR

Tahapan analisis marka SSR meliputi pengambilan sampel daun, isolasi DNA, pengujian kualitas dan kuantitas DNA, serta amplifikasi marka SSR. Setelah itu, dilanjutkan dengan analisis data. Sampel daun muda diambil dari tanaman kelapa kopyor tipe Genjah di tiga kecamatan yang telah ditentukan. Untuk masing-masing warna buah dari sepuluh tanaman terpilih diambil sampel daun. Sampel diambil dari daun tombak yang bebas hama dan penyakit, masing-masing dua helai setiap tanaman.

DNA total tanaman diisolasi dengan menggunakan sampel daun muda kelapa Genjah kopyor seberat 2 g. DNA

yang didapat selanjutnya dikeringkan dan disuspensikan ke dalam 500 µl larutan TE (1×). Kontaminan RNA dihilangkan dengan menambahkan *RNAse* ke dalam suspensi DNA sehingga diperoleh konsentrasi akhir 1000 µg/ml. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam dan suspensi DNA diekstraksi berturut-turut dengan 1 volume senyawa fenol dan diikuti dengan 1 volume kloroform : isoamil alkohol = 24 : 1. Akhirnya, DNA diendapkan dan disuspensi ke dalam larutan TE.

Kuantitas dan kualitas atau kemurnian DNA diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 dan 280 nm. Konsentrasi DNA dihitung berdasarkan rumus pengenceran × nilai absorbansi 260 nm × 50 µg/ml.

Lima pasang primer spesifik yang telah digunakan sebelumnya, yaitu CNZ 21, CNZ 51, CnCir H4, CncirA3, dan Cncir E2 digunakan untuk menghasilkan marka SSR. Pasangan primer yang mampu menghasilkan marka polimorfik digunakan untuk analisis keragaman genetik intra dan antar populasi tanaman kelapa kopyor.

Amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk menghasilkan marka SSR dilakukan dengan menggunakan mesin Takara *PCR Thermal Cycler* model Dice 96 wells. Campuran reaksi PCR sebanyak 12,5 µl, terdiri atas 10 ng (4µl) DNA kelapa sebagai cetakan, 0,2 µM (1 µl) primer *foward* dan primer *reverse*, 0,25 µl dNTP (Promega), 0,5U (0,075µl) Taq DNA polymerase, 10× buffer PCR (1,25 ul), dan sisanya hingga 12,5 µl ditambahkan *ultra-pure water* steril. Amplifikasi PCR dilakukan menggunakan 35 siklus, terdiri atas tahap denaturasi (94°C selama 40 detik), penempelan primer (52-55°C 1 menit), pemanjangan primer (72°C 1 menit), dan pemanjangan akhir (72°C 10 menit).

Untuk mengevaluasi keragaman alel masing-masing marka SSR, sebanyak 3,5 µl hasil amplifikasi PCR dianalisis menggunakan *Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE) vertikal, pada arus konstan 40mA selama 2-3 jam. Alat elektroforesis yang digunakan adalah Biorad, SequegenGT dengan power supply Power Pac 5000V.

Pewarnaan DNA dilakukan dengan perak nitrat mengikuti metode yang telah dimodifikasi CRESTE *et al.* (2001). Setelah pewarnaan, plat kaca dikeringanginkan kemudian difoto sebagai dokumentasi. Setelah itu, dilakukan skoring keragaman alel yang muncul.

Data molekuler hasil analisis SSR diamati berdasarkan ada atau tidaknya pita. Setiap posisi pita DNA berkorespondensi dengan alel tertentu. Pita-pita yang diperoleh diubah ke dalam bentuk data biner dengan memberi nilai satu (1) jika ada pita dan nol (0) apabila tidak ada. Data biner yang didapat digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik berdasarkan rumus NEI dan LI (1979) sebagai berikut:

$$F_{ab} = \frac{2n_{ab}}{n_a + n_b}$$

F_{ab} = nilai kesamaan genetik antara individu tanaman a dan b

n_{ab} = jumlah pita yang sama posisinya pada individu a dan b

n_a dan n_b = jumlah pita pada masing-masing individu a dan b

Berdasarkan nilai kesamaan genetik tersebut, dilakukan analisis pengelompokan data matriks (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram menggunakan metode *Unweighted Pair-Group Method Arithmetic* (UPGMA) menggunakan program NTSys 2.02.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan karakter morfologi populasi kelapa Genjah kopyor yang tersebar di kecamatan Tayu, Margoyoso, dan Dukuh Seti, diperoleh adanya enam variasi warna buah, yaitu hijau, hijau kecoklatan, coklat, coklat kehijauan, kuning, dan orange (gading) (Gambar 1).



Gambar 1. Keragaman warna buah kelapa Genjah kopyor asal Pati

Figure 1. Fruit color diversity among kopyor Dwarf coconut originated from Pati

Pada penelitian ini, pengamatan difokuskan pada tiga warna buah kelapa Genjah kopyor yang dominan, yaitu hijau, coklat, dan kuning. Nilai koefisien keragaman karakter vegetatif antar tanaman dari masing-masing warna buah berada di bawah 20% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan karakter batang dan daun masing-masing tanaman kelapa Genjah kopyor dengan warna buah hijau, coklat, dan kuning relatif seragam. Karakter vegetatif merupakan penciri morfologi yang mudah digunakan untuk membedakan antar varietas tanaman. Keseragaman karakter vegetatif pada ketiga kelapa Genjah kopyor tersebut memperkecil peluang untuk dilakukan dalam seleksi tanaman dalam varietas. Hasil pengamatan karakter morfologi plasma nutfah kelapa oleh NOVARIANTO *et al.* (1999) menunjukkan keragaman yang tinggi antar varietas dan rendah dalam varietas.

Tabel 1. Karakter vegetatif tiga varietas kelapa Genjah kopyor asal Pati

Table 1. Vegetative characters of three kopyor Dwarf coconut varieties from Pati

Karakter/Characters	GHK/KGD			GCK/KBD			GKK/KYD		
	Rataan Average	SB SD	KK CV (%)	Rataan Average	SB SD	KK CV (%)	Rataan Average	SB SD	KK CV (%)
Lingkar batang pada 20 cm/Stem girth at 20 cm (cm)	96,26	11,41	11,85	98,19	9,91	10,09	89,71	14,89	16,59
Lingkar batang pada 1,5 m/Stem girth at 1.5 m (cm)	72,72	6,72	9,25	73,72	4,07	5,52	71,75	7,56	10,53
Tinggi 11 bekas daun/Stem length of 11 leaf scar (cm)	74,39	16,30	21,91	77,09	16,43	21,32	60,75	13,77	22,67
Panjang tangkai daun/Petiole length (cm)	131,00	16,45	12,56	127,85	16,07	12,57	132,30	17,02	12,87
Panjang lamina/Leaf length (cm)	379,54	38,17	10,06	354,84	35,19	9,92	345,13	43,60	12,63
Tebal tangkai daun/Petiole thickness (cm)	2,99	0,43	14,36	3,07	0,42	13,77	3,12	0,94	30,06
Lebar tangkai daun/Petiole width (cm)	6,68	0,70	10,55	6,64	0,94	14,22	6,30	0,93	14,75
Jumlah daun/Leaf number	23,89	3,45	14,42	23,15	3,44	14,85	23,05	2,44	10,58
Jumlah anak daun/Leaflet number	106,63	6,90	6,66	99,35	6,44	6,48	101,80	8,73	8,57
Lebar anak daun/Leaflet width (cm)	4,65	0,87	18,69	4,44	0,77	17,35	4,05	0,80	19,70
Panjang anak daun/Leaflet length (cm)	118,92	10,16	8,54	114,77	14,80	12,89	112,91	11,14	9,87

Keterangan: GHK= Genjah Hijau Kopyor; GCK= Genjah Coklat Kopyor; GKK= Genjah Kuning Kopyor; SB = Simpangan Baku; KK = Koefisien Keragaman

Notes: KGD = Kopyor Green Dwarf; KBD= Kopyor Brown Dwarf; KYD= Kopyor Yellow Dwarf; SD = Standart Deviation; CV = Coeffisien of Variation

Tabel 2. Karakter generatif, komponen hasil, dan hasil tiga varietas kelapa Genjah kopyor asal Pati

Table 2. Generative characters, yield component, and yield of three kopyor Dwarf coconut varieties originated from Pati

Karakter/Characters	GHK/KGD			GCK/KBD			GKK/KYD		
	Rataan Average	SB DS	KK CV (%)	Rataan Average	SB DS	KK CV (%)	Rataan Average	SB DS	KK CV (%)
Jumlah tandan/Bunch number	12,26	2,54	20,67	12,00	1,05	17,10	11,70	3,10	26,47
Jumlah bunga betina/Female flower number	23,68	14,41	60,85	20,90	6,23	29,82	20,95	13,21	63,05
Panjang tangkai tandan/Peduncle length (cm)	47,31	8,37	17,70	43,46	4,78	10,99	43,30	7,77	17,95
Lebar tangkai tandan/Peduncle width (cm)	3,53	0,40	11,21	3,53	0,38	10,61	3,58	0,96	26,78
Tebal tangkai tandan/Peduncle thickness (cm)	2,00	0,32	16,24	2,12	0,39	18,62	2,25	0,48	21,36
Panjang rangkaian bunga/ Central axis length (cm)	39,58	7,46	18,84	37,40	7,29	19,49	37,25	9,19	24,68
Jumlah spikelet/Spikelet number	35,16	8,20	23,33	34,10	5,00	14,68	35,75	5,40	15,10
Panjang spikelet/Spikelet length (cm)	40,84	5,87	14,38	41,79	4,06	9,67	38,65	7,21	18,66
Jumlah buah/tandan/ Fruit number/bunch	11,42	2,43	21,31	11,40	4,21	36,93	8,40	1,85	21,99
Jumlah buah kopyor/Kopyor fruit number	3,89	1,52	39,12	4,00	2,45	61,24	3,16	0,90	28,45
Persentase buah kopyor/Kopyor fruit percentage (%)	37,58	12,14	32,32	34,99	12,95	37,00	35,16	14,54	41,34
Berat buah utuh/Fruit weight (g)	1103,57	271,59	24,61	1001,82	287,95	28,74	1228,75	311,15	25,32
Lingkar buah polar/Fruit polar girth (cm)	50,57	5,02	9,92	49,00	4,00	8,16	52,13	3,67	7,04
Lingkar buah equatorial/Fruit equatorial girth (cm)	41,82	3,91	9,35	42,64	6,02	14,12	42,31	6,38	15,09
Panjang buah polar/Fruit polar length (cm)	33,93	2,62	7,71	32,18	3,37	10,47	33,50	2,85	8,51
Panjang buah equatorial/Fruit equatorial length (cm)	34,29	34,29	8,74	32,91	3,56	10,83	33,81	2,76	8,17
Berat buah tanpa sabut/Nut weight (g)	590,00	142,18	24,10	563,64	154,35	27,39	611,25	172,39	28,20
Berat buah tanpa sabut dan air/Split nut weight (g)	413,85	76,54	18,50	370,91	115,02	31,01	373,00	87,79	23,41
Berat daging buah/Meat weight (g)	201,23	50,46	25,08	197,00	59,08	29,99	181,88	45,05	24,77
Tebal daging buah/ Fruit meat thickness (cm)	1,07	0,41	38,23	0,88	0,88	0,27	30,32	1,03	42,13

Karakter generatif semua varietas kelapa kopyor yang diteliti memiliki tingkat keragaman cukup tinggi. Jumlah bunga betina merupakan karakter yang mempunyai keragaman tinggi, dengan koefisien keragaman sebesar 29,82-63,05% (Tabel 2). Selain faktor genetis, karakter ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan, terutama ketersediaan air saat inisiasi pembentukan bunga (PERERA *et al.*, 2010). Pada karakter produksi buah, meliputi jumlah buah normal dan kopyor pertandan, serta persentase buah kopyor per tandan, juga menunjukkan keragaman yang tinggi, dengan nilai koefisien keragaman sebesar 21,31-61,24% (Tabel 2). Keragaman tinggi pada karakter produksi tersebut, memungkinkan dilakukan seleksi populasi kelapa Genjah kopyor asal Pati, untuk mendapatkan tanaman dengan persentase buah kopyor per tandan yang tinggi. Karakter

buah yang juga memiliki nilai koefisien keragaman tinggi adalah berat endosperma (181,88-201,23 g) dengan nilai 24,77-29,99%. Sifat ini juga sangat terkait dengan karakteristik endosperma yang tipis, tebal, atau penuh mengisi rongga buah kelapa kopyor. Kedepan, seleksi tanaman kelapa kopyor dapat diarahkan berdasarkan sifat endosperma tersebut, terutama dalam pemilihan tetua, untuk perakitan varietas unggul. Menurut NOVARIANTO *et al.* (2014), program pemuliaan kelapa kopyor diarahkan pada karakter hasil buah kopyor dan kuantitas endospermnya.

Hasil analisis kemiripan karakter vegetatif, berdasarkan jarak kuadrat Euclidean menggunakan program NTSys versi 2.02, menunjukkan dengan tiga warna buah kelapa kopyor asal Pati (hijau, coklat, dan kuning) memiliki perbedaan morfologi sebesar 95%, atau hanya mirip 5%

(Gambar 2). Ketiga warna buah kelapa Genjah kopyor tersebut membentuk kelompok yang berbeda dengan pembanding varietas unggul yang sudah dilepas sebelumnya, yaitu GSK, GRA, dan GKN (NOVARIANTO *et al.*, 1999), dengan tingkat kemiripan hanya 2%. Hal tersebut menunjukkan ketiga warna buah kelapa Genjah kopyor asal Pati memiliki perbedaan morfologi dengan varietas kelapa Genjah unggul yang telah dilepas Balai Penelitian Tanaman Palma (Balit Palma) Manado. Hal ini juga menunjukkan seleksi berdasarkan karakter warna buah akan sangat efektif.

Hasil pengamatan karakteristik endosperma diperoleh variasi tipis, tebal, sampai penuh. Berdasarkan hasil tersebut, karakteristik endosperm dikategorikan dengan pemberian skor 1-9 (SUDARSONO *et al.*, 2011). Kelapa Genjah kopyor asal Pati memiliki karakteristik endosperma yang bervariasi, yaitu skor 1, 2 3, 4, 5, dan 6 (Gambar 3). Belum diketahui penyebab perbedaan karakteristik endosperma buah kelapa kopyor tersebut, apakah dikendalikan secara genetik atau hanya pengaruh lingkungan. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan mengamati endosperma kelapa kopyor di sekitar tanaman sampel dan hasil persilangan terkontrol menggunakan serbuk sari yang telah diketahui karakteristiknya.

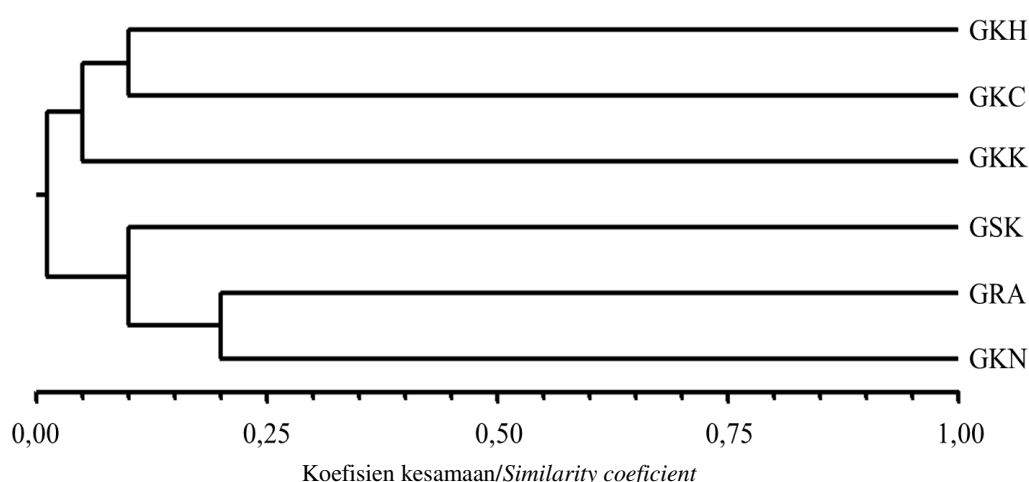
Berdasarkan analisis DNA dengan menggunakan 5 primer SSR, masing-masing tanaman dalam setiap warna buah tertentu memiliki tingkat kemiripan sebesar 78-100 atau keberagaman 22%, sedangkan antar warna buah yang berbeda memiliki kemiripan sebesar 68% (Gambar 4). Kemiripan yang tinggi antar tanaman dalam setiap tipe diduga disebabkan oleh pola pembungaan kelapa Genjah kopyor yang cenderung menyerbuk sendiri, yaitu sebesar 95%. Keragaman antar tanaman dalam warna buah yang sama, disebabkan terjadinya penyerbukan silang antar kelapa Genjah kopyor dengan kelapa lain di sekitarnya,

akibat dari struktur bunga yang terbuka. Hal tersebut terlihat pada Gambar 4, individu tanaman kelapa GHK, tanaman sampel #1 (GHK-1) dengan GCK, kemudian GKK, tanaman sampel #1 (GKK-1) yang mengelompok dengan GHK, dan GCK, tanaman sampel #1 (GCK-1) dengan GKK.

Diduga, tanaman kelapa Genjah kopyor yang diamati (GKK-1, GHK-1, dan GCK-1) berasal dari benih hasil penyerbukan silang dengan kelapa Genjah lain di sekitar tanaman induknya. Menurut ISMAYANTI (2013), lebah sebagai serangga penyerbuk bunga kelapa memungkinkan terjadinya penyerbukan silang. Hal ini berakibat pada terbentuknya tanaman hibrida Genjah dengan fenotipe warna buah tertentu. Warna buah hijau merupakan karakter dominan terhadap warna buah coklat dan kuning. Tanaman kelapa Genjah hibrida hasil silangan antara Genjah hijau dan coklat mempunyai fenotipe buah warna hijau tetapi genotipenya hibrida. Akibatnya, untuk individu tanaman hibrida Genjah semacam itu, meskipun buahnya berwarna hijau tetapi secara genetik dapat mengelompok dengan aksesi kelapa Genjah yang warna buahnya coklat seperti pada tanaman sampel GHK-1.

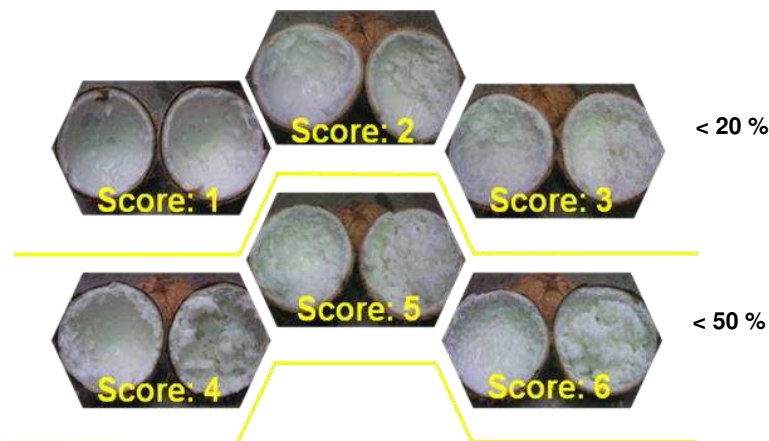
Tanaman GKK-1 yang mengelompok dengan GHK diduga merupakan tanaman hibrida Genjah, sehingga meskipun buahnya berwarna kuning, tanaman tersebut mengelompok dengan aksesi kelapa Genjah hijau. Demikian juga tanaman GCK-1 yang mengelompok dengan GKK diduga juga merupakan tanaman hibrida Genjah sehingga meskipun buahnya berwarna coklat, tanaman tersebut mengelompok dengan aksesi kelapa Genjah kuning.

Keragaman antar tanaman dengan warna buah berbeda menunjukkan terdapat perbedaan latar belakang genetik masing-masing individu. Secara fenotipik, hal tersebut ditunjukkan oleh perbedaan warna buah dan secara genetik dengan marka SSR.



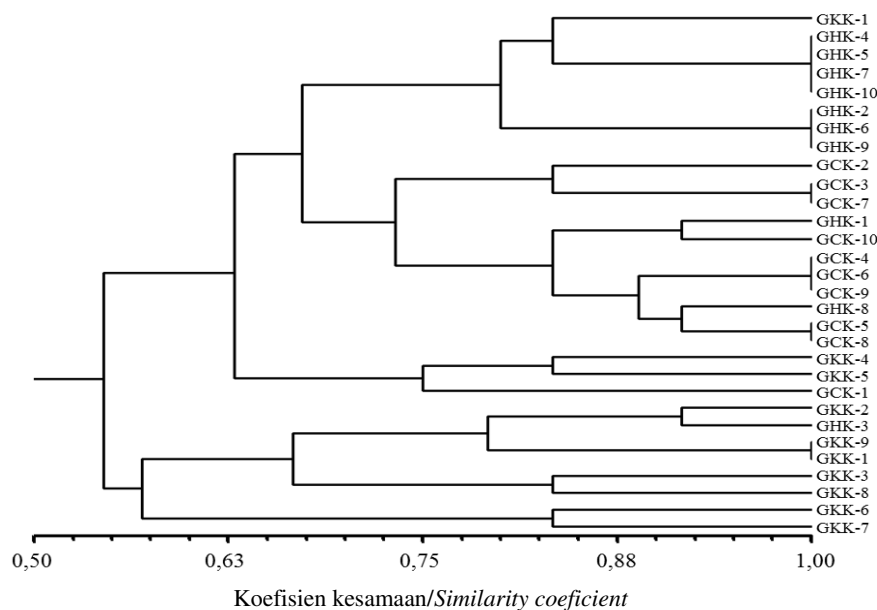
Gambar 2. Kluster tiga kelapa Genjah kopyor asal Pati dan varietas unggul yang sudah dilepas berdasarkan karakter morfologi

Figure 2. Cluster result among three kopyor Dwarf coconuts originated from Pati and standard varieties released based on their morphological characters



Gambar 3. Kisaran skor kuantitas endosperma kelapa Genjah kopyor asal Pati. Catatan: < 20% - endosperma menempati < 20% dan < 50% - endosperma menempati < 50% volume biji.

Figure 3. Endosperm quantity score ranges of kopyor Dwarf coconut originated from Pati. Notes: < 20% - endosperma occupy < 20% and < 50% - endosperma occupy < 50% of the nut volume.



Gambar 4. Dendrogram tiga varietas kelapa Genjah kopyor berdasarkan data marka SSR

Figure 4. Dendrogram of three kopyor Dwarf coconut varieties constructed using SSR marker

Hal tersebut di atas memperkuat dugaan sebelumnya bahwa populasi tanaman dengan warna buah coklat, hijau, dan kuning memiliki perbedaan fenotipik dan genetik. Data yang dihasilkan dalam penelitian ini memvalidasi dan memperkuat dasar pelepasan ketiganya menjadi varietas kelapa Genjah kopyor pada tahun 2010 oleh Menteri Pertanian RI (MASKROMO *et al.*, 2011; MASKROMO *et al.*, 2012). Di sisi lain, keragaman genetik yang rendah intra-varietas kelapa Genjah kopyor asal Pati tersebut, memungkinkan penggunaannya dalam perakitan varietas unggul baru melalui metode persilangan terkontrol. Namun

demikian, pada masing-masing populasi harus dilakukan seleksi tanaman tetua terlebih dahulu. Seleksi tetua kelapa Genjah kopyor Pati dapat dilakukan berdasarkan warna buah, persentase buah kopyor pertandan, dan kuantitas endospermanya.

KESIMPULAN

Berdasarkan karakteristik morfologis dan marka SSR, keragaman antar tanaman dalam varietas (*intra-variety*) kelapa Genjah kopyor asal Pati tergolong rendah (< 20%

untuk morfologis dan < 22% untuk SSR). Sebaliknya, keragaman antar varietas (*inter-variety*) berdasarkan karakteristik morfologis dan marka SSR tergolong tinggi (95% untuk morfologis dan 32% untuk SSR). Kuantitas endosperma buah kopyor dari kelapa Genjah kopyor asal Pati bervariasi, antara skor 1–6. Keragaman genetik yang relatif tinggi antara ketiga varietas merupakan dasar pembeda dalam pelepasan ketiga varietas kelapa Genjah kopyor Pati. Sebaliknya, keragaman genetik antar tanaman dalam varietas yang rendah memungkinkan penggunaan masing-masing varietas sebagai tetua dalam program perakitan varietas unggul baru.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Pertanian yang telah membantu menyediakan dana melalui Program KKP3N berjudul “Pendekatan Genomik dan Molekuler untuk Pengembangan Kultivar Unggul Kelapa Kopyor Asal Indonesia, Penyediaan Bibit dan Pengendalian Hamanya”, Nomor Kontrak: 708/LB.620/I.1/2/2013, tanggal 25 Februari 2013, di bawah koordinasi Prof. Dr. Ir. Sudarsono, MSc, dan dukungan beasiswa studi S3 Ismail Maskromo di IPB. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Agus Susetyo Purwono, dari Kantor Dinas Kehutanan dan Perkebunan Kabupaten Pati dan Siswanto dari Kantor Dinas Perkebunan Kabupaten Lampung Selatan yang telah membantu kegiatan pengamatan di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- CRESTE, S., V. TULMANN, and A. FIGUEIRA. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter*. 19: 299-306.
- ISMAYANTI, R. 2013. Analisis Kemiripan Genetik dan Persebaran Polen Kelapa Genjah kopyor Pati berdasarkan Marka SNP dan SSR (Tesis). Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. 93 hlm.
- KUMAR, P., V.K. GUPTA, A.K. MISRA, D.R. MODI, and B.K. PANDEY. 2009. Potential of molecular marker in plant biotechnology. *Plant Omics Journal*. 2: 141-162.
- MARTINEZ, T.R., L. BAUDOIN, A. BERGER, and M. DOLLET. 2010. Characterization of genetic diversity of tall coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Dominican Republic using microsatellite (SSR) marker. *Tree Genetics & Genomes*. 6(1):73-81. Doi: 10.1007/S11295-009-0229-6.
- MASKROMO, I. 2005. Kemiripan genetik populasi kelapa berbuah kopyor berdasarkan karakter morfologi dan marka DNA SSRs (*Simple Sequence Repeats*) (Tesis). Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 30 hlm.
- MASKROMO, I. dan H. NOVARIANTO. 2007. Perbanyakan Kelapa Kopyor secara Alami. *Dalam*: Mashud, N, E.T. Tenda, Miftahorahman, J.S. Warroka, J.C. Alouw, J. Mawikere, dan J. Kumaunang (eds.) Monograf Kelapa Kopyor. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Litbang Pertanian. hlm. 9-18.
- MASKROMO, I., H. NOVARIANTO, dan SUDARSONO. 2011. Fenologi pembungaan tiga varietas kelapa Genjah kopyor Pati. Prosiding Seminar Nasional PERHORTI. Lembang, 23-24 November 2011. hlm. 1001-1009.
- MASKROMO, I., H. NOVARIANTO, D. SUKMA, dan SUDARSONO. 2012. Potensi hasil plasma nutfah kelapa kopyor asal Kalianda, Pati, Sumenep, dan Jember. Prosiding Seminar Nasional Pemanfaatan SDG Lokal Mendukung Industri Perbenihan Nasional. Bandung, 10 Desember 2011. hlm. 499-506.
- MASKROMO, I., H. NOVARIANTO, SUKENDAH, D. SUKMA, and SUDARSONO. 2013. Productivity of three kopyor Dwarf coconut varieties from Pati, Central Java, Indonesia. *CORD. International J. on Coconut R & D*. 29(2): 19-28
- MONDINI, L., A. NOORANI, and M.A. PAGNOTA. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Review Diversity J*. 1: 19-35.
- NEI, M. and W.M. LI. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. *Proc. Natl. Acad. Science*. 76: 5269-5273.
- NOVARIANTO, H., J. KUMAUNANG, dan I. MASKROMO. 1999. Keragaman morfologi plasma nutfah kelapa. *Buletin Palma*. 25: 31-38.
- NOVARIANTO, H., I. MASKROMO, D. DINARTI, and SUDARSONO. 2014. Production technology for kopyor coconut seednuts and seedlings in Indonesia. *International J. on Coconut R & D*. 30(2): 31-40.
- PARK, Y.J., J.K. LEE, and N.S. KING. 2009. Simple Sequence Repeat Polymorphisms (SSRPs) for evaluation of molecular diversity and germplasm classification of minor crops. *Molecul. J*. 14: 4546-4569.
- PERERA, L. 2010. Hybrid testing and variety identification of coconut (*Cocos nucifera* L.) in Sri Lanka using microsatellite marker. *International Journal on Coconut R&D*. 26(1): 39-46.
- PERERA, P.I.P., V. HOCHER, L.K. WEERAKOON, D.M.D. YAKANDAWALA, S.C. FERNANDO, and J.L. VERDEIL. 2010. Early inflorescence and floral development in *Cocos nucifera* L. (Arecaceae: Arecoideae). *South African J. Bot*. 76:482-492. Doi: 10.1016/j.sajb.2010.03.006.
- RIBEIRO, E.F., L. BOAUDOIN, P. LEBRUN, L.J. CHAVES, C. BRONDANI, M.I. ZUCCHI, and R. VENCOSKY. 2010. Population structure of Brazilian tall coconut (*Cocos nucifera* L.) by microsatellite markers. *Genetic and Molecular Biology*. 33(4): 696-702.
- SUDARSONO, H. NOVARIANTO, and I. MASKROMO. 2011. Diversity of endosperma quality among Kalianda tall coconut. Poster presented at International Seminar on Natural Resources, Climate Change, and Food Security (ISNAR C2FS), Surabaya, INDONESIA. 27-28 June 2011.
- SUDARSONO, SUDRAJAT, H. NOVARIANTO, M.L.A. HOSANG, D. DINARTI, M.S. RAHAYU, dan I. MASKROMO. 2013. Produksi Bibit Kopyor *True to Type* dengan Persilangan Terkontrol dan Peningkatan Produksi Buah Kopyor dengan *Pollinator* Lebah Madu. Laporan Program Hi-Link. Dikti. 2013 (Unpublished).
- YAO, S.D.M., K.J.L. KONAN, N.D. POKOU, K.J.N. KONAN, A.E. ASSALI, R.S. SIE, and B.I.A. ZORO. 2013. Assessment of the genetic diversity conservation in three tall coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions regenerated by controlled pollination, using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*. 12(20): 2808-2815. Doi: 10.5897/AJB11.3608.

